

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
9. September 2005 (09.09.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2005/083093 A3**

|   |                               |   |                                |    |
|---|-------------------------------|---|--------------------------------|----|
| (51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :<br>C12N 9/02, 9/10, A01K 67/027 | <b>C11B 1/02,</b>             | 10 2004 017 518.7   | 8. April 2004 (08.04.2004)     | DE |
|   |                               | 10 2004 024 014.0   | 14. Mai 2004 (14.05.2004)      | DE |
|   |                               | PCT/EP/04/07957   | 16. Juli 2004 (16.07.2004)     | EP |
| (21) Internationales Aktenzeichen:  | PCT/EP2005/001863             | 10 2004 062 543.3   |                                |    |
| (22) Internationales Anmeldedatum:  |                               |   | 24. Dezember 2004 (24.12.2004) | DE |
|   | 23. Februar 2005 (23.02.2005) | (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von<br>US): BASF PLANT SCIENCE GmbH [DE/DE]; 67056<br>Ludwigshafen (DE).  |                                |    |
| (25) Einreichungssprache:   | Deutsch                       | (72) Erfinder; und  |                                |    |
| (26) Veröffentlichungssprache:  | Deutsch                       | (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): CIRPUS, Petra<br>[DE/DE]; Landteilstr.12, 68163 Mannheim (DE).<br>BAUER, Jörg [DE/DE]; Thorwaldsenstr. 1A, 67061<br>Ludwigshafen (DE). QIU, Xiao [CA/CA]; 403 Kendar-<br>dine Road, Saskatoon Sk. S7N 3S5 (CA). WU, Guohai |                                |    |
| (30) Angaben zur Priorität:   |                               |   |                                |    |
|   | 10 2004 009 457.8             |   |                                |    |
|   | 27. Februar 2004 (27.02.2004) | DE  |                                |    |
|   | 10 2004 012 370.5             |   |                                |    |
|   | 13. März 2004 (13.03.2004)    | DE  |                                |    |

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING POLYUNSATURATED FATTY ACIDS IN TRANSGENIC PLANTS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG MEHRFACH UNGESÄTTIGTER FETTSÄUREN IN TRANSGENEN  
PFLANZEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing polyunsaturated fatty acids in seeds of transgenic plants. According to said method, nucleic acids, coding for polypeptides with a  $\omega$ -3-desaturase,  $\Delta$ -12-desaturase,  $\Delta$ -6-desaturase,  $\Delta$ -6-elongase,  $\Delta$ -5-desaturase,  $\Delta$ -5-elongase and/or  $\Delta$ -4-desaturase activity, preferably for polypeptides with a  $\Delta$ -6-desaturase,  $\Delta$ -6-elongase and  $\Delta$ -5-desaturase activity, are introduced into the organism. The nucleic acid sequences are represented by SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 199 and SEQ ID NO: 201. Advantageously, said nucleic acid sequences can be expressed in the organism optionally together with other nucleic acid sequences that code for polypeptides of the biosynthesis of the fatty acid or lipid metabolism. Nucleic acid sequences coding for a  $\Delta$ -6-desaturase,  $\Delta$ -5-desaturase,  $\Delta$ -4-desaturase,  $\Delta$ -12-desaturase and/or  $\Delta$ -6-elongase activity are especially advantageous. Advantageously, said desaturases and elongases originate from thalassiosira, euglena or ostreococcus. The invention also relates to a method for producing oils and/or triacylglycerides with an increased content of long-chain polyunsaturated fatty acids. In a preferred embodiment, the invention also relates to a method for producing arachidonic acid, eicosapentaenoic acid or docosahexaenoic acid, and to a method for producing triglycerides with an increased content of unsaturated fatty acids, especially arachidonic acid, eicosapentaenoic acid and/or docosahexaenoic acid, in transgenic plants, preferably in seeds of the transgenic plants. The invention further relates to the production of a transgenic plant with an increased content of polyunsaturated fatty acids, especially arachidonic acid, eicosapentaenoic acid and/or docosahexaenoic acid, based on the expression of the elongases and desaturases used in the inventive method. The invention also relates to recombinant nucleic acids molecules containing, together or individually, nucleic acid sequences coding for the polypeptides with a  $\Delta$ -6-desaturase,  $\Delta$ -6-elongase,  $\Delta$ -5-desaturase and  $\Delta$ -5-elongase activity, and transgenic plants containing said recombinant nucleic acid molecules. Another part of the invention relates to oils, lipids and/or fatty acids produced according to the inventive method, and to the use thereof. Furthermore, the invention relates to unsaturated fatty acids and triglycerides with an increased content of unsaturated fatty acids, and to the use of the same.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren im Samen transgener Pflanzen, indem Nukleinsäuren in den Organismus eingebracht werden, die für Polypeptide mit  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- und/oder  $\Delta$ -4-Desaturaseaktivität bevorzugt für Polypeptide mit  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase- und  $\Delta$ -5-Desaturaseaktivität codieren. Bei den Nukleinsäuresequenzen handelt es sich um die in SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 199 und SEQ ID NO: 201 dargestellten Sequenzen. Vorteilhaft können diese Nukleinsäuresequenzen gegebenenfalls zusammen mit weiteren Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide der Biosynthese des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels codieren, in dem Organismus exprimiert werden. Besonders vorteilhaft sind Nukleinsäuresequenzen, die für eine  $\Delta$ -6-Desaturase-, eine  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -4-Desaturase-,  $\Delta$ -12-Desaturase- und/oder  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft stammen diese Desaturasen und Elongasen aus Thalassiosira, Euglena oder Ostreococcus. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Ölen und/oder Triacylglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Die Erfindung betrifft in einer bevorzugten Ausführungsform ausserdem ein Verfahren zur Herstellung

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2005/083093 A3



[CA/CA]; 2103 Kenderdine Road, Saskatoon Sk. S7N 4A9 (CA). **DATLA, Nagamani** [CA/CA]; 527 Bayview Terrace, Saskatoon Sk. S7V 1B6 (CA).

(74) **Anwalt: PRESSLER, Uwe**; c/o BASF Aktiengesellschaft, 67056 Ludwigshafen (DE).

(81) **Bestimmungsstaaten** (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) **Bestimmungsstaaten** (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) **Veröffentlichungsdatum des internationalen**

**Recherchenberichts:**

16. Februar 2006

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

von Arachidonsäure, Eicosapentaensäure oder Docosahexaensäure sowie ein Verfahren zur Herstellung von Triglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren, insbesondere Arachidonsäure, Eicosapentaensäure und/oder Docosahexaensäure, in transgenen Pflanzen vorteilhaft im Samen der transgenen Pflanze. Die Erfindung betrifft die Herstellung einer transgenen Pflanze mit erhöhtem Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, insbesondere Arachidonsäure, Eicosapentaensäure und/oder Docosahexaensäure, aufgrund der Expression der im erfindungsgemässen Verfahren verwendeten Elongasen und Desaturasen. Die Erfindung betrifft weiterhin rekombinante Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenzen, die für die Polypeptide mit  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase- und  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität kodieren, gemeinsam oder einzeln enthalten, sowie transgene Pflanzen, die die vorgenannten rekombinanten Nukleinsäuremoleküle enthalten. Ein weiterer Teil der Erfindung betrifft Öle, Lipide und/oder Fettsäuren hergestellt nach dem erfindungsgemässen Verfahren und deren Verwendung. Ausserdem betrifft die Erfindung ungesättigte Fettsäuren sowie Triglyceride mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren und deren Verwendung.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat Application No  
PCT/EP2005/001863

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C11B1/02 C12N9/02 C12N9/10 A01K67/027

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C11B C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category ° | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| X          | <p>DREXLER H ET AL: "Metabolic engineering of fatty acids for breeding of new oilseed crops: Strategies, problems and first results"</p> <p>JOURNAL OF PLANT PHYSIOLOGY, FISCHER, STUTTGART, DE, vol. 160, no. 7, July 2003 (2003-07), pages 779-802, XP002266491</p> <p>ISSN: 0176-1617</p> <p>page 781, right-hand column, last paragraph</p> <p>page 794, right-hand column, paragraph 3 -</p> <p>page 796, paragraph 3; figure 6</p> <p>-----</p> <p>-/--</p> | 1-14                  |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

## ° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 August 2005

Date of mailing of the international search report

11. 10. 2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Keller, Y

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2005/001863

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| A          | BEAUDOIN FREDERIC ET AL: "Heterologous reconstitution in yeast of the polyunsaturated fatty acid biosynthetic pathway"<br>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, US,<br>vol. 97, no. 12, 6 June 2000 (2000-06-06),<br>pages 6421-6426, XP002200201<br>ISSN: 0027-8424<br>abstract<br>page 6421, right-hand column, paragraph 2;<br>figure 1<br>----- | 1-14                  |
| X          | DE 102 19 203 A1 (BASF PLANT SCIENCE GMBH)<br>13 November 2003 (2003-11-13)<br>claims 1-14<br>-----  | 1-14                  |
| T          | MEYER ASTRID ET AL: "Novel fatty acid elongases and their use for the reconstitution of docosahexaenoic acid biosynthesis."<br>JOURNAL OF LIPID RESEARCH. OCT 2004,<br>vol. 45, no. 10, October 2004 (2004-10),<br>pages 1899-1909, XP009046591<br>ISSN: 0022-2275<br>the whole document<br>-----  | 1-14                  |
| A          | DOMERGUE F ET AL: "Cloning and functional characterization of Phaeodactylum tricornutum front-end desaturases involved in eicosapentaenoic acid biosynthesis"<br>EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, BERLIN, DE,<br>vol. 269, no. 16, August 2002 (2002-08),<br>pages 4105-4113, XP002228745<br>ISSN: 0014-2956<br>abstract<br>figures 1,2,4,5<br>-----  | 1-14                  |
| A          | ZANK T K ET AL: "Cloning and functional expression of the first plant fatty acid elongase specific for DELTA6-polyunsaturated fatty acids"<br>BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS, COLCHESTER, ESSEX, GB,<br>vol. 28, no. 6, December 2000 (2000-12),<br>pages 654-658, XP002174836<br>ISSN: 0300-5127<br>the whole document<br>-----   | 1-14                  |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2005/001863

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☒ Claims Nos.: **53**  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
  
**See FURTHER INFORMATION SHEET PCT/ ISA/ 210**
  
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

**See supplemental sheet**

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**1-14 and 24-35 (in part.)**

### Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, namely

1. Claims 1-14 and 24-35 (in part)

method of preparing fats/oils/lipids in transgenic organisms  
containing  
(delta 9 desaturase or delta 6 desaturase) and  
(delta 8 desaturase or delta 6 desaturase) and  
delta 5 desaturase and delta 5 elongase and delta 4 elongase.

---

2. Claims 15-17 and 24-35, 37, 38, 41-44 (in part)

method of preparing fats/oils/lipids in transgenic organisms  
containing  
delta 6 desaturase and delta 6 elongase  
delta 5 desaturase.

---

3. Claims 18-20 and 24-35, 37, 39, 41-44 (in part)

method of preparing fats/oils/lipids in transgenic organisms  
containing  
delta 6 desaturase and delta 6 elongase  
delta 5 desaturase and delta 12 desaturase.

---

4. Claims 21-23 and 24-35, 37, 40-44 (in part)

method of preparing fats/oils/lipids in transgenic organisms  
containing  
delta 6 desaturase and delta 6 elongase  
delta 5 desaturase and delta 5 elongase.

---

## 5. Claims 36, 45-48

oils, lipids, fatty acids.

---

## 6. Claim 37 (in part)

use of a delta 12 elongase.

---

## 7. Claim 37 (in part)

use of a delta 6 desaturase.

---

## 8. Claim 37 (in part)

use of a delta 5 desaturase.

---

## 9. Claim 37 (in part)

use of a delta 6 elongase.

---

## 10. Claim 37 (in part)

use of a delta 5 elongase.

---

## 11. Claim 40 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 38,  
additionally containing a delta 5 elongase.

---

## 12. Claim 40 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 38,  
additionally containing a delta 5 elongase.

---

13. Claim 41 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 38,  
additionally containing a fatty acid or lipid metabolic gene.

---

14. Claim 41 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 39,  
additionally containing a fatty acid or lipid metabolic gene.

---

15. Claim 41 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 40,  
additionally containing a fatty acid or lipid metabolic gene.

---

16. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 38,  
additionally containing a delta 4 desaturase.

---

17. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 39,  
additionally containing a delta 4 desaturase.

---

18. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 40,  
additionally containing a delta 4 desaturase.

---



## 19. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 41,  
additionally containing a delta 4 desaturase.

---

## 20. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 38,  
additionally containing a delta 8 desaturase.

---

## 21. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 39,  
additionally containing a delta 8 desaturase.

---

## 22. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 40,  
additionally containing a delta 8 desaturase.

---

## 23. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 41,  
additionally containing a delta 8 desaturase.

---

## 24. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 38,  
additionally containing a delta 9 desaturase.

---

## 25. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 39,  
additionally containing a delta 9 desaturase.

---

## 26. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 40,  
additionally containing a delta 9 desaturase.

---

## 27. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 41,  
additionally containing a delta 9 desaturase.

---

## 28. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 38,  
additionally containing a delta 9 elongase.

---

## 29. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 39,  
additionally containing a delta 9 elongase.

---

## 30. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 40,  
additionally containing a delta 9 elongase.

---

## 31. Claim 42 (in part)

recombinant nucleic acid molecule according to claim 41,  
additionally containing a delta 9 elongase.

---

## 32. Claim 43 (in part)

transgenic plant containing a nucleic acid molecule according to claim 38.

---

33. Claim 43 (in part)

transgenic plant containing a nucleic acid molecule according to claim 39.

---

34. Claim 43 (in part)

transgenic plant containing a nucleic acid molecule according to claim 40.

---

35. Claim 43 (in part)

transgenic plant containing a nucleic acid molecule according to claim 41.

---

36. Claim 43 (in part)

transgenic plant containing a nucleic acid molecule according to claim 42.

---

37. Claims 49 and 52 (in part)

isolated nucleic acid with delta 5 elongase activity (Seq. Id. No. 197).

---

38. Claims 50 and 52, 54 (in part)

isolated nucleic acid with delta 6 elongase activity (Seq. Id. No. 199).

---

## 39. Claims 51 and 52, 54 (in part)

isolated nucleic acid with delta 6 desaturase activity (Seq. Id. No. 201).

---

## 40. Claim 55 (in part)

transgenic plant containing as transgene a nucleic acid with delta 5 elongase activity (Seq. Id. No. 197).

---

## 41. Claim 55 (in part)

transgenic plant containing as transgene a nucleic acid with delta 6 elongase activity (Seq. Id. No. 199).

---

## 42. Claim 55 (in part)

transgenic plant containing as transgene a nucleic acid with delta 6 desaturase activity (Seq. Id. No. 201).

---

Continuation of II.2

Claim: 53

Claim 53 is unclear because it refers to itself.

The applicant is advised that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established normally cannot be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended

after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. After entry into the regional phase before the EPO, however, an additional search can be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, Part C, VI, 8.5) if the deficiencies that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been remedied.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/001863

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| DE 10219203                               | A1                  | 13-11-2003                 |                     |
|   |                     | AU 2003232512 A1           | 17-11-2003          |
|   |                     | CA 2485060 A1              | 13-11-2003          |
|   |                     | WO 03093482 A2             | 13-11-2003          |
|   |                     | EP 1501932 A2              | 02-02-2005          |
| -----                                     |                     |                            |                     |

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C11B1/02 C12N9/02 C12N9/10 A01K67/027

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C11B C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE, WPI Data

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie° | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| X          | <p>DREXLER H ET AL: "Metabolic engineering of fatty acids for breeding of new oilseed crops: Strategies, problems and first results"</p> <p>JOURNAL OF PLANT PHYSIOLOGY, FISCHER, STUTTGART, DE,</p> <p>Bd. 160, Nr. 7, Juli 2003 (2003-07), Seiten 779-802, XP002266491</p> <p>ISSN: 0176-1617</p> <p>Seite 781, rechte Spalte, letzter Absatz</p> <p>Seite 794, rechte Spalte, Absatz 3 - Seite 796, Absatz 3; Abbildung 6</p> <p style="text-align: center;">-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p> | 1-14               |

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&amp;" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

23. August 2005

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

1. 10. 2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2

NL - 2280 HV Rijswijk

Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,

Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Keller, Y

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie <sup>o</sup> | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr. |
|------------------------|---|--------------------|
| A                      | <p>BEAUDOIN FREDERIC ET AL: "Heterologous reconstitution in yeast of the polyunsaturated fatty acid biosynthetic pathway"</p> <p>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, US,<br/>Bd. 97, Nr. 12, 6. Juni 2000 (2000-06-06),<br/>Seiten 6421-6426, XP002200201<br/>ISSN: 0027-8424<br/>Zusammenfassung<br/>Seite 6421, rechte Spalte, Absatz 2;<br/>Abbildung 1</p> | 1-14               |
| X                      | <p>DE 102 19 203 A1 (BASF PLANT SCIENCE GMBH)<br/>13. November 2003 (2003-11-13)<br/>Ansprüche 1-14</p>   | 1-14               |
| T                      | <p>MEYER ASTRID ET AL: "Novel fatty acid elongases and their use for the reconstitution of docosahexaenoic acid biosynthesis."</p> <p>JOURNAL OF LIPID RESEARCH. OCT 2004,<br/>Bd. 45, Nr. 10, Oktober 2004 (2004-10),<br/>Seiten 1899-1909, XP009046591<br/>ISSN: 0022-2275<br/>das ganze Dokument</p>   | 1-14               |
| A                      | <p>DOMERGUE F ET AL: "Cloning and functional characterization of Phaeodactylum tricornutum front-end desaturases involved in eicosapentaenoic acid biosynthesis"</p> <p>EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, BERLIN, DE,<br/>Bd. 269, Nr. 16, August 2002 (2002-08),<br/>Seiten 4105-4113, XP002228745<br/>ISSN: 0014-2956<br/>Zusammenfassung<br/>Abbildungen 1,2,4,5</p>   | 1-14               |
| A                      | <p>ZANK T K ET AL: "Cloning and functional expression of the first plant fatty acid elongase specific for DELTA6-polyunsaturated fatty acids"</p> <p>BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS, COLCHESTER, ESSEX, GB,<br/>Bd. 28, Nr. 6, Dezember 2000 (2000-12),<br/>Seiten 654-658, XP002174836<br/>ISSN: 0300-5127<br/>das ganze Dokument</p>  | 1-14               |



## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP2005/001863

### Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☒ Ansprüche Nr. 53  
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich  
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr.  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

### Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☒ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:  
1-14 und 24-35 (teil.)

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.

☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

## 1. Ansprüche: 1-14 und 24-35 (teil.)

Verfahren zur Herstellung von Fetten/Ölen/Lipiden in transgenen Organismen enthaltend  
 (delta 9 desaturase oder delta 6 desaturase) und  
 (delta 8 desaturase oder delta 6 elongase) und  
 delta 5 desaturase und delta 5 elongase und delta 4 elongase  
 ---

## 2. Ansprüche: 15-17 und 24-35, 37, 38, 41-44 (teil.)

Verfahren zur Herstellung von Fetten/Ölen/Lipiden in transgenen Organismen enthaltend  
 delta 6 desaturase und delta 6 elongase  
 delta 5 desaturase  
 ---

## 3. Ansprüche: 18-20 und 24-35, 37, 39, 41-44 (teil.)

Verfahren zur Herstellung von Fetten/Ölen/Lipiden in transgenen Organismen enthaltend  
 delta 6 desaturase und delta 6 elongase  
 delta 5 desaturase und delta 12 desaturase  
 ---

## 4. Ansprüche: 21-23 und 24-35, 37, 40-44 (teil.)

Verfahren zur Herstellung von Fetten/Ölen/Lipiden in transgenen Organismen enthaltend  
 delta 6 desaturase und delta 6 elongase  
 delta 5 desaturase und delta 5 elongase  
 ---

## 5. Ansprüche: 36, 45-48

Öl, Lipide, fettsäuren  
 ---

## 6. Anspruch: 37 (teil.)

Verwendung einer delta 12 elongase  
 ---

## 7. Anspruch: 37 (teil.)

Verwendung einer delta 6 desaturase  
 ---

## 8. Anspruch: 37 (teil.)

Verwendung einer delta 5 desaturase

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

9. Anspruch: 37 (teil.)

Verwendung einer delta 6 elongase

10. Anspruch: 37 (teil.)

Verwendung einer delta 5 elongase

11. Anspruch: 40 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 38  
zusätzlich enthaltend eine delta 5 elongase

12. Anspruch: 40 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 39  
zusätzlich enthaltend eine delta 5 elongase

13. Anspruch: 41 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 38  
zusätzlich enthaltend ein fettsäure oder lippidstoffwechsel  
gen

14. Anspruch: 41 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 39  
zusätzlich enthaltend ein fettsäure oder lippidstoffwechsel  
gen

15. Anspruch: 41 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 40  
zusätzlich enthaltend ein fettsäure oder lippidstoffwechsel  
gen

16. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 38  
zusätzlich enthaltend eine delta 4 desaturase

17. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 39  
zusätzlich enthaltend eine delta 4 desaturase

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

---

## 18. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 40  
zusätzlich enthaltend eine delta 4 desaturase

---

## 19. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 41  
zusätzlich enthaltend eine delta 4 desaturase

---

## 20. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 38  
zusätzlich enthaltend eine delta 8 desaturase

---

## 21. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 39  
zusätzlich enthaltend eine delta 8 desaturase

---

## 22. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 40  
zusätzlich enthaltend eine delta 8 desaturase

---

## 23. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 41  
zusätzlich enthaltend eine delta 8 desaturase

---

## 24. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 38  
zusätzlich enthaltend eine delta 9 desaturase

---

## 25. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 39  
zusätzlich enthaltend eine delta 9 desaturase

---

## 26. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 40  
zusätzlich enthaltend eine delta 9 desaturase

---

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

## 27. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 41  
zusätzlich enthaltend eine delta 9 desaturase  
---

## 28. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 38  
zusätzlich enthaltend eine delta 9 elongase  
---

## 29. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 39  
zusätzlich enthaltend eine delta 9 elongase  
---

## 30. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 40  
zusätzlich enthaltend eine delta 9 elongase  
---

## 31. Anspruch: 42 (teil.)

Rekombinanstes Nukleinsäuremolekül nach anspruch 41  
zusätzlich enthaltend eine delta 9 elongase  
---

## 32. Anspruch: 43 (teil.)

Transgene pflanze enthaltend ein Nukleinsäure molekül nach  
anspruch 38  
---

## 33. Anspruch: 43 (teil.)

Transgene pflanze enthaltend ein Nukleinsäure molekül nach  
anspruch 39  
---

## 34. Anspruch: 43 (teil.)

Transgene pflanze enthaltend ein Nukleinsäure molekül nach  
anspruch 40  
---

## 35. Anspruch: 43 (teil.)

Transgene pflanze enthaltend ein Nukleinsäure molekül nach  
anspruch 41  
---

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

## 36. Anspruch: 43 (teil.)

Transgene pflanze enthaltend ein Nukleinsäure molekül nach  
anspruch 42

---

## 37. Anspruch: 49 und 52 (teil.)

Isolierte Nukleinsäure mit delta 5 elongase aktivität (SEQ  
ID No 197).

---

## 38. Ansprüche: 50 und 52, 54 (teil.)

Isolierte Nukleinsäure mit delta 6 elongaseaktivität (SEQ ID  
No 199).

---

## 39. Ansprüche: 51 und 52, 54 (teil.)

Isolierte Nukleinsäure mit delta 6 desaturaseaktivität (SEQ  
ID No 201).

---

## 40. Anspruch: 55 (teil.)

Transgene pflanze enthaltend als transgen eine Nukleinsäure  
mit delta 5 elongase aktivität (SEQ ID No 197).

---

## 41. Anspruch: 55 (teil.)

Transgene pflanze enthaltend als transgen eine Nukleinsäure  
mit delta 6 elongase aktivität (SEQ ID No 199).

---

## 42. Anspruch: 55 (teil.)

Transgene pflanze enthaltend als transgen eine Nukleinsäure  
mit delta 6desaturaseaktivität (SEQ ID No 201).

---

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld II.2

Ansprüche Nr.: 53

Der anspruch 53 ist nicht klar da er auf sich selbst bezieht.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit, der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäss Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt. Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-VI, 8.5), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.

**INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

**PCT/EP2005/001863**

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument |    | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie |               | Datum der<br>Veröffentlichung |
|--|----|-------------------------------|-----------------------------------|---------------|-------------------------------|
| DE 10219203  | A1 | 13-11-2003                    | AU                                | 2003232512 A1 | 17-11-2003                    |
|  |    |                               | CA                                | 2485060 A1    | 13-11-2003                    |
|  |    |                               | WO                                | 03093482 A2   | 13-11-2003                    |
|  |    |                               | EP                                | 1501932 A2    | 02-02-2005                    |
| <hr/>  |    |                               |                                   |               |                               |